УДК: 616.22-006-018 (048)

С.Б. БЕЗШАПОЧНИЙ, Ю.А. ГАСЮК, В.В. ЛОБУРЕЦЬ

МОЛЕКУЛЯРНІ МАРКЕРИ ПРИ ПЛОСКОКЛІТИННИХ КАРЦИНОМАХ ГОРТАНІ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» – «Вивчення закономірностей структурної організації внутрішніх органів в нормі та при патології» номер держреєстрації: 0106U003236.

Розвиток молекулярної біології та цитогенетики дозволив значно розширити знання та уявлення про механізми канцерогенезу. Канцерогенез являє собою багатоступеневий процес накопичення мутацій та інших генетичних змін, які викликають порушення регуляції клітинного циклу, апоптоз, диференціювання, морфологічні реакції клітин, а також неефективне функціонування факторів специфічного та неспецифічного протипухлинного імунітету [4, 5, 8]. При цьому ключову роль у виникненні вказаних властивостей неопластичної клітини відіграють порушення функції пухлинних супресорів та протоонкогенів [7, 10, 12-14, 21, 27, 53]. Таким чином, висока інформативність молекулярних маркерів щодо прогнозування перебігу, ефективності лікування та прогнозу злоякісних новоутворень спонукає до більш глибокого їх вивчення.

Визначальна роль у розвитку неопластичного процесу належить пухлинним супресорам – групі генів, які розпізнають та відновлюють пошкодження геному, гальмують клітинну проліферацію та ін. Саме інактивація останніх приводить до виникнення та прогресії злоякісних новоутворень [4, 5, 7, 8, 19, 21].

Найбільш вивченим серед пухлинних супресорів є антионкоген p53. Останній являється «сторожем» геному, який в нормі розпізнає та виправляє сублетальні помилки, що регулярно виникають в ході реплікації ДНК. В звичайних умовах p53 перебуває в латентній формі та має слабку транскрипційну активність [7, 16, 27].

Стресорна форма p53 активує білок p21 – інгібітор циклінзалежних кіназ, який викликає зупинку клітинного циклу на пізній стадії G1. В разі проходження клітиною G1-чекпойнта активація антионкогену p53 може викликати затримку клітинного циклу на стадії G2. При цьому паралельно запускаються процеси відновлення ДНК. При успішній репарації клітина в подальшому може функціонувати та поділятись. В інших випадках через активацію каскаду каспаз ген p53 запускає апоптоз клітини. При цьому активуються відразу два основні шляхи індукції апоптозу: мітохондріальний та стимульований «рецепторами смерті», що, очевидно, забезпечує надійність його реалізації [7, 13, 15, 16, 42, 47].

Онкосупресорна функція антионкогену p53 також забезпечується репресуванням транскрипції гена VEGF – ключового фактора в пухлинному неоангіогенезі [7, 35].

Таким чином, p53 є багатофункціональним пухлинним супресором, який через свої генимішені регулює клітинний цикл, індукує апоптоз, регулює морфологію та міграцію клітин, а також контролює процеси ангіогенезу.

Найбільш універсальною генетичною зміною у розвитку злоякісних новоутворень людини є постмутантна інактивація онкосупресорної функції p53. Переважна більшість мутацій p53 являють собою місенс-мутації, які призводять до заміни однієї амінокислоти на іншу, в результаті чого синтезується неактивний протеїн [7, 20-22, 47; 53].

Мутації гену p53 можуть детермінувати як початкові етапи канцерогенезу, а також виникати в ході пухлинної прогресії. В зв'язку з цим в злоякісних пухлинах спостерігається переважно мутований тип гену p53. Останній обумовлює появу нових властивостей, характерних для неопластичних клітин, а саме: самодостатність у проліферативних сигналах та зниження чутливості до ріст-супресуючих сигналів, іммортилізацію, генетичну нестабільність, здатність до стимуляції неоангіогенезу, а також порушення клітинного диференціювання [4, 5, 8, 12].

Домінуюча роль мутацій даного гена в канцерогенезі підтверджується численними дослідженнями [12, 19, 21, 27, 36, 47, 53]. При

плоскоклітинних карциномах голови та шиї експресія мутованої форми онкопротеїну p53 спостерігається частіше, ніж в злоякісних пухлинах інших локалізацій. За різними даними, вона визначається в 42-76% випадків [2, 24, 28, 39, 44].

Численні дослідження свідчать про те, що експресія онкопротеїну p53 при плоскоклітинній карциномі голови та шиї є надважливим прогностичним показником, який корелює з несприятливим перебігом та низьким рівнем виживання хворих [1-3, 12, 18, 23, 24, 39, 46, 52]. Визначено достовірний кореляційний зв'язок між рівнем експресії даного маркера та регіонарним метастазуванням, а також раннім розвитком рецидивів [2, 3, 19, 45]. Надекспресія p53 при плоскоклітинній карциномі гортані також є достовірним показником їх резистентності до опромінення та хіміотерапії [2, 17, 20, 37, 57].

Продукти генів p63 та p73 мають високу ступінь гомології з протеїном p53. Проте, на відміну від останнього, гени p63 та p73 кодують по декілька білків і являють собою протоонкогени. Крім того, існують інші відмінності p53 від його гомологів. Якщо антионкоген p53 експресується в клітинах практично всіх тканин, то його гомолог ген p63 – лише в ембріональних клітинах, а також в стовбурових і недиференційованих епітеліоцитах дорослої людини. При цьому експресія останнього забезпечує недиференційований стан клітин [7, 59].

В злоякісних новоутвореннях мутація генів p63 та p73, як правило, не спостерігається [7, 59]. Проте окремі дослідження [56] свідчать про те, що при плоскоклітинній карциномі гортані останні експресуються саме у мутованій формі.

В пухлинах досить часто відмічається підвищення експресії протеїнів, які кодуються геном p63 та p73. При плоскоклітинній карциномі гортані експресія p63 спостерігається в 81-95% випадків, а p73 – в 47-68% [25, 56]. При цьому в p53-негативних пухлинах, як правило, визначається підвищення експресії p63 або p73. Експресія p73 корелює з віддаленим метастазуванням та периневральною інвазією пухлини [25].

Отже, різний характер експресії p53 та його гомологів свідчить про їх незалежну роль в канцерогенезі. В зв'язку з цим існує гіпотеза, що протеїни p63 та p73 функціонують як природні інгібітори p53, що пригнічують функцію останнього за домінантно-негативним механізмом [7, 59]. Остання гіпотеза, як і інші аспекти біологічних функцій генів p63 та p73, потребують подальшого вивчення.

Протеїн p16 є продуктом гена INK4a і в нормі запобігає розмноженню клітин, в яких виникла активація онкогенів («протеїн-наглядач»). Останній безпосередньо зв'язує циклінзалежні кінази та перешкоджає утворенню їх функціонально активних комплексів з циклінами D. В зв'язку з цим активація протеїну P16 відбувається при експресії вірусних та клітинних онкогенів, а його дисфункція обумовлює генетичну нестабільність клітини. [4, 7, 38, 50, 51].

В новоутвореннях у людини патологія p16INK4a є другою за частотою подією після інактивації онкосупресорної функції гену p53. Термінальна мутація гену INK4, який міститься на короткому плечі IX хромосоми, асоціюється із спадковою схильністю до розвитку меланом та різних диспластичних процесів [4, 50, 51].

Існує прямий кореляційний зв'язок між мутацією p16INK4a та раннім метастазуванням, підвищенням частоти рецидивів та зниженням показника виживання хворих [20, 34].

За характером розрізняється фокальний та дифузний тип експресії p16INK4a. При диспластичних процесах має місце фокальний тип експресії, а при карциномах – переважно дифузний тип експресії p16 [33].

Розвиток плоскоклітинних карцином голови та шиї у хворих до 40 років пов'язується з інфікуванням вірусом папіломатозу людини (HPV-інфікування), тоді як у хворих похилого та старечого віку – з дисфункцією гена p53 [21, 30].

В останні роки визначений прямий кореляційний зв'язок між HPV-інфікуванням та порушенням функції p16INK4a при плоскоклітинній карциномі голови та шиї [33, 40]. Інтенсивна дифузна експресія p16 при плоскоклітинній карциномі гортані свідчить про HPV-індукований канцерогенез та корелює з відносно сприятливим клінічним перебігом. При цьому карциноми з надекспресією p16 характеризуються високою радіочутливістю, що, очевидно, пов'язано із збереженням функції гена p53, який безпосередньо ініціює апоптоз. В зв'язку з цим ступінь та характер експресії p16 є важливим критерієм для диференціальної діагностики передпухлинних диспластичних процесів в багатошаровому плоскому епітелії і плоскоклітинних карцином [34].

Проникність мембран мітохондрій для AIF (апоптоз-індукуючого фактору) та цитохрому С регулюють протеїни родини bcl2, яка налічує більше двох десятків членів. Одні з них (bcl2 та bcl-x), локалізуючись на зовнішній мембрані мітохондрій, закривають канали, через які відбувається вихід AIF та цитохрому С. Таким чином, продукти протоонкогенів – білки bcl2 та bcl-x блокують апоптоз. Інші протеїни (bax, bak, bad, bid) є індукторами апоптозу. При апоптогенних сигналах вони переміщуються з цитоплазми до мембран мітохондрій, де утворюють гетеромерні комплекси з антиапоптогенними білками bcl2

та bcl-x, що обумовлює відкриття їх каналів. Через відкриті канали AIF і цитохром С виходять в цитоплазму, в подальшому проникають в ядро, де викликають конденсацію хроматину та фрагментацію ядра [7, 15, 27].

Таким чином, одні протеїни родини bcl2 є індукторами апоптозу, а інші – його антагоністами. При цьому пухлинний супресор – ген p53 на транскрипційному рівні здійснює одночасно активацію індукторів та репресію антагоністів апоптозу [7, 47].

Рівень експресії bcl2 корелює зі ступенем дисплазії епітелію та ступенем інвазії карциноми, що свідчить про значну роль даного протеїну в канцерогенезі [20, 36].

Рівень експресії bcl2 при плоскоклітинній карциномі гортані є важливим прогностичним фактором, який корелює із ступенем диференціювання, розміром пухлини, регіонарним метастазуванням та раннім розвитком рецидивів [1, 2, 23, 36, 37, 55].

При плоскоклітинних карциномах гортані експресія bcl2 відмічається в середньому в 11% випадків, при високодиференційованих карциномах вона визначається в 5%, при помірнодиференційованих – в 12%, а при низькодиференційованих – в 23% [55]. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між рівнем експресії bcl2 та регіонарним метастазуванням. За наявності регіонарних метастазів плоскоклітинної карциноми гортані експресія bcl2 спостерігається в 27,7% випадків, а при відсутності – в 17,2% [2].

Неефективність променевої терапії при плоскоклітинному раку гортані, яка виявляється в 15% випадків, пов'язана з радіорезистентністю пухлини. Опромінення викликає летальне пошкодження ДНК, в результаті чого антионкоген p53 індукує апоптоз ракової клітини. Радіорезистентність злоякісних новоутворень обумовлена як інактивацією гену p53, так і підвищенням антиапоптогенної функції bcl2 [21, 36, 52]. В зв'язку з цим, існує зворотний кореляційний зв'язок між рівнем експресії bcl2 та ефективністю променевої терапії [2, 18, 26, 37, 54, 57].

Проліферативна активність неопластичних клітин традиційно визначають на підставі підрахунку числа фігур мітозу. В останні роки з цією метою використовуються імуногістохімічні маркери проліферації. Клітини, що перебувають в G1- S- та G2-фазах циклу, ідентифікуються на підставі експресії специфічного антигену, яка визначається за допомогою найбільш універсального антитіла Кі-67 [10, 13, 27].

За рівнем експресії маркера Кі-67 при плоскоклітинній карциномі гортані розрізняється висока проліферативна активність (більше 30% клітин), помірна (21-30% клітин) та низька (менше 20% клітин). При цьому визначено зворотний кореляційний зв'язок між індексом проліферації та ступенем гістологічного диференціювання карциноми [2, 9].

Рівень експресії маркера Кі-67 має важливе прогностичне значення щодо перебігу плоскоклітинного раку гортані [2, 3, 6, 9, 41, 52]. Відмічена чітка кореляція між високою проліферативною активністю ракових клітин (більше 30% клітин) та наявністю секундарних змін в регіонарних лімфатичних вузлах [2, 43, 45, 58]. Крім того, високий рівень експресії даного маркера корелює з ранньою появою рецидивів [2, 3, 41].

Висока проліферативна активність є показником потенційної радіочутливості плоскоклітинної карциноми гортані. При цьому існує прямий кореляційний зв'язок між рівнем експресії маркера Кі-67 та ефективністю променевої терапії [2, 57]. Останнє дозволяє використовувати рівень експресії даного маркера в якості допоміжного критерію при виборі методу лікування хворих з плоскоклітинним раком гортані.

В ході канцерогенезу виникають компенсаційно-пристосувальні реакції, спрямовані на покращання кровопостачання пухлин шляхом утворення нових судин (неоангіогенез). При цьому інтенсивність ангіогенезу суттєво впливає на співвідношення процесів проліферації та апоптозу в ракових клітинах, а також на ріст та метастазування пухлин. В ході розвитку новоутворення поступово формується її певний ангіогенний потенціал, який реалізується насамперед через секрецію неопластичними клітинами ангіогенних факторів [11, 32, 49].

Серед ангіогенних факторів, які продукує пухлина, найбільш специфічним є фактор росту ендотеліальних клітин – VEGF (vascular endothelial growth factor). Сім'я VEGF складається з 5 членів (A, B, C, D, E). Найбільш важливим в ангіогенезі є VEGF-A. Він являє собою глікопротеїн і є мішенню для низки інгібіторів пухлинного росту [11, 29, 31].

В неопластичних клітинах VEGF експресується під впливом мутованих онкогенів родини RAS [48]. В результаті такої експресії посилюється міграція та адгезія ендотеліальних клітин, що стимулює ангіогенез.

Процеси неоваскуляризації при пухлинному рості проявляються утворенням капіляроподібних паростків із нормальних передіснуючих мікросудин. При цьому формуються морфологічно незрілі судини, які мають редуковану базальну мембрану та характеризуються підвищеною проникністю. Судини, що формуються серед пухлинних комплексів, є типовими венулами з ендотелієм неперервного типу. В них відсутні перицити та м'язовий прошарок, а також

іннервація. При швидкому рості пухлини формуються ще примітивніші судини, які можуть являти собою канали, обмежені тільки ендотелієм або атиповими клітинами. Судинна мережа карцином характеризується відсутністю колатералей, наявністю дилатацій, артеріовенозних шунтів, трифуркацій судин [11, 32].

Розрізняються чотири стадії неоангіогенезу: 1) міграція неопласичних клітин до існуючих судин ще до появи неоваскуляризації; 2) виникнення змін в існуючих судинах (вазодилатація та збільшення їх звивистості); 3) утворення нових судин; 4) інтимний контакт новостворених судин з неопластичними клітинами [11, 49].

Враховуючи важливе значення неоангіогенезу як основного процесу для росту та метастазування пухлини, в якості неспецифічного прогностичного показника онкозахворювання використовується експресія VEGF. При цьому високий рівень експресії VEGF достовірно погіршує прогноз онкопроцесу [11, 13, 22, 29, 31].

Отже, аналітичний огляд літератури свідчить про те, що використання молекулярних маркерів в сучасній онкоморфології дозволяє оптимізувати діагностику, а також прогнозування плоскоклітинної карциноми гортані. Окремі молекулярні маркери є досить суттєвими прогностичними факторами, проте значно більшу інформативну цінність вони мають у своїй сукупності.

Перспективи подальших досліджень. Вивчення молекулярних маркерів дозволить покращити діагностику та прогнозування плоскоклітинної карциноми гортані.

1. Горбань Н.А. Клинико-морфологическая и иммуногистохимическая характеристика и прогностические критерии плоскоклеточного рака гортани: Автореф. дис. … канд. мед. наук: спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Н.А. Горбань – М., 2008. – 25 с.
2. Гриценко П. О. Діагностика та прогноз перебігу плоскоклітинних раків гортані: імуноморфологічні аспекти: Автореф. дис. … канд. мед. наук: спец. 14.03.02 « Патологічна анатомія» / П.О. Гриценко – Дніпропетровськ, 2007. – 20 с.
3. Гриценко П.О. Прогноз перебігу плоскоклітинних раків гортані на підставі визначення імуногістохімічного профілю / П.О. Гриценко // Морфологія. – 2007. – Т. 1, № 4. – С. 21-26.
4. Заридзе Д.Г. Канцерогенез / Заридзе Д.Г. – М.: Медицина, 2004. – 576 с.
5. Имянитов Е. Н. Современные представления о злокачественной трансформации / Е.Н. Имянитов, К. П. Хансон // Практическая онкология. – 2006. – Т. 6, № 1. – С. 7-12.
6. Ковтуненко О.В. Аналіз проліферативної активності в плоскоклітинних раках гортані / О.В. Ковтуненко // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2009. – № 5. – С. 14-21.
7. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза / Б.П. Копнин // Биохимия. – 2000. – Т. 65. – С. 5-33.
8. Копнин Б. П. Неопластическая клетка: основные свойства и механизмы их возникновения / Б.П. Копнин // Практическая онкология. – 2002. – Т. 3, № 4. – С. 229–235.
9. Кулагин Р.Н. Дифференцировка и пролиферация клеток рака гортани (иммуногистохимическое исследование): Автореф. дис. … канд. мед. наук: спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Кулагин Р.Н. – Санкт-Петербург, 2000. – 19 с.
10. Лукач Е.В. Моноклональні антитіла в онкології / Е.В. Лукач // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2007. – № 1. – С. 78-87.
11. Новак О.Є. Ангіогенез у розвитку злоякісних пухлин: теоретичні і практичні аспекти / О.Є. Новак, І.О. Лісник, В.Ф. Чехун // Онкологія. – 2002. – Т. 4, № 4. – С. 26-34.
12. Осинский С.П., Глузман Д.Ф., Клифф Й. и соавт. Молекулярная диагностика опухолей: фундаментальные основы и практическое применение: монография. – К, 2007. – 248 с.
13. Петров С.В. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С.В. Петров, Н.Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 456 с.
14. Пожарисский К.М. Значение иммуногистохимических методик для определения характера лечения и прогноза опухолевых заболеваний / К.М. Пожарисский, Е.Е. Леенман // Архив патологии. – 2000. – № 5. – С. 3–11.
15. Фильченков А.А. Апоптоз и рак / А.А. Фильченков, Р.С. Стойка. – К.: Морион, 1999. – 184 с.
16. Чумаков П.М. Функция гена p53: выбор между жизнью и смертью / П.М. Чумаков // Биохимия. – 2000. – № 65. – С. 34–47.
17. Шпонька І.С. Імуногістохімічний профіль раків гортані з різним клінічним плином та ефектом на проведену терапію / І. С. Шпонька, П.О. Гриценко, О.В. Ковтуненко // Морфологія. – 2007. – Т.І, № 2. – С. 95–101.
18. Anastasios S. N. Molecular markers predictive of response and prognosis in the patient with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: evolution of a model beyond TNM staging / S.N. Anastasios, C. J. Kevin // Current Opinion in Oncology. – 2000. –Vol. 12, № 3. – P. 229–239.
19. Benard J. TP53 family members and human cancers / J. Benard, S. Douc-Rasy, J.C. Ahomadegbe // Hum. Mutat. – 2003. – Vol. 21, № 3. – P. 182–191.

20. Bergamaschi D. P53 polymorphism influences response in cancer chemotherapy via modulation of p73-dependent apoptosis / D. Bergamaschi, M. Gasco, L. Hiller et al. // Cancer Cell. – 2003. – Vol. 3, № 4. – P. 387–402.
21. Blons H. TP53 and head and neck neoplasms / H. Blons, P. Laurent-Puig // Human Mutation. – 2003. – Vol. 21. – P. 252–257.
22. Boonkitticharoen V. Vascular endothelial growth factor and proliferation marker in prediction of lymph node metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma / V. Boonkitticharoen, B. Kulapaditharom, J. Leopairut, et al. // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 2008. – Vol. 134, № 12. – P. 1305–1311.
23. Boran C. Correlation of proliferating cell nuclear antigen and bcl-2 expression with tumor front grading and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma / C. Boran, L. Yildiz, B. Kandemir // Neoplasma. – 2003. – Vol. 50. – P. 139–143.
24. Buyukbayram H. Prognostic value of PCNA and mutant p53 expression in laryngeal squamous cell carcinoma / H. Buyukbayram, S. Cureoglu, A. Arslan, R. Li-Kakdogan // Cancer Investigation. – 2005. – Vol. 22, № 2. – P. 195–202.
25. Choi H. R. Differential expression of p53 gene family members p63 and p73 in head and neck squamous tumorigenesis / H. R. Choi, J. G. Batsakis, F. Zhan [et al.] // Hum. Pathol. – 2002. – Vol. 33. – P. 158–164.
26. Condon L. Overexpression of Bcl-2 in squamous cell carcinoma of the larynx: A marker of radioresistance / L. Condon, J. Ashman, S. Ell // Int. J. Cancer. – 2002. – Vol. 100, № 4. – P. 472–475.
27. Dabbs D. J. Diagnostic immunohistochemistry / Dabbs D. J. – New York: Churchill Livingstone, 2006. – 828 p.
28. De Vincentis M. Immunohistochemical expression of fatty acid synthase, Ki-67 and p53 in squamous cell carcinomas of the larynx / M. De Vincentis, P. Di Cello, F. Censi [et al.] // Int. J. Biol. Markers. – 2008. – Vol. 23. – P. 176–181.
29. Dvorak H.F. Vascular permeability factor / vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumour angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy / H. F. Dvorak // J. Clin. Oncol. – 2002. – Vol. 20. – P. 4368–4380.
30. El-Mofty S.K. Prevalence of human papillomavirus type 16 DNA in squamous cell carcinoma of the palatine tonsil, and not the oral cavity, in young patients: a distinct clinicopathologic and molecular disease entity / S.K. El-Mofty, D.W. Lu // Am. J. Surg. Pathol. – 2003. – Vol. 27, № 11. – P. 1463–1470.
31. Ferrara N. Timeline: VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors / N. Ferrara // Nat. Rev. Cancer. – 2002. – Vol. 2. – P. 795–803.
32. Folkman J. Incipiens of angiogenesis in cancer / J. Folkman // J. Nat. Cancer Inst. – 2000. – Vol. 92. – P. 94–95.
33. Fregonesi P. P16INK4A immunohistochemical overexpression in premalignant and malignant oral lesions infected with human papillomavirus / P. Fregonesi, D. Teresa, R. Duarte [et al.] // Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 2003. – Vol. 51, № 10. – P. 1291-1297.
34. Geisler S. P16 and p53 protein expression as prognostic indicators of survival and disease recurrence from head and neck cancer / S. Geisler, A. Olshan, M. Weissler [et al.] // Clinical Cancer Research. – 2002. – Vol. 8. – P. 3445–3453.
35. Hegde P. Tumor angiogenesis and p53 mutations prognosis in head and neck cancer / P. Hegde, A. Brenski, D. Caldarelli [et al.] // Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg. – 1998. – Vol. 124, № 1. – P. 80–85.
36. Hussein M. R. Alterations of p53 and Bcl-2 protein expression in the laryngeal intraepithelial neoplasia / M. R. Hussein // Cancer biology and therapy. – 2005. – Vol. 4, № 2. – P. 213–217.
37. Jackel M. Prognostic significance of expression of p53, bcl-2 and bax in squamous epithelial carcinoma of the larynx – a multivariate analysis / M. Jackel, L. Sellmann, S. Youssef [et al.] // HNO. – 2001. – Vol. 49, № 3. – P. 204-211.
38. Kinzler K. W. Gatekeepers and caretakers / K. W. Kinzler, B. Vogelstein // Nature. – 1997. – Vol. 386. – P. 761–763.
39. Klatka J. Prognostic value of the expression of p53 and bcl-2 in patients with laryngeal carcinoma / J. Klatka // Eur. Arch. Otorhinolaryngology. – 2001. – Vol. 258. – P. 537–541.
40. Klussmann J. Expression of p16 protein identifies a distinct entity of tonsillar carcinomas associated with human papillomavirus / J. Klussmann, E. Gultekin, S. Weissenborn [et al.] // Am. J. Pathol. – 2003. – Vol. 162, № 3. – P. 747–753.
41. Krecicki T. Ki-67 immunostaining and prognosis in laryngeal cancer / T. Krecicki, M. Jelen, M. Zalesska-Krecicka, T. Szkudlarek // Clin. Otolaryngol. Allied Scien. – 1998. – Vol. 23, № 6. – P. 539–542.
42. Levine A. J. P53, the cellular gatekeeper for growth and division / A. J. Levine // Cell. – 1997. – Vol. 88. – P. 323–331.
43. Liu M. Predictive value of the fraction of cancer cells immunolabeled for proliferating cell nuclear antigen or Ki67 in biopsies of head and neck carcinomas to identify lymph node metastasis: comparison with clinical and radiologic examinations / M. Liu, G. Lawson, M. Delos [et al.] // Head Neck. – 2003. – Vol. 25, № 4. – P. 280-288.
44. Lopez-Martinez M. Clinical applications of the diagnosis of p53 alterations in squamous cell carcinoma of the head and neck / M. Lopez-Marti-

nez, M. Anzola, N. Cuevas [et al.] // Med. Oral. – 2002. – Vol. 7. – P. 108–120.
45. Mielcarek-Kuchta D. P53, Ki67 and cyclin D1 as prognosticators of lymph node metastases in laryngeal carcinoma / D. Mielcarek-Kuchta, J. Olofsson, W. Golusinski // Eur. Arch. Otorhinolaryngol. – 2003. – Vol. 260, № 10. – P. 549–554.
46. Osman I. Alteration of p53 pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck: impact on treatment outcome in patients treated with larynx preservation intent / Osman I., Sherman E., Singh B. [et al.] // J. of Clinical Oncology. – 2002. – Vol. 20, № 13. – P. 2980–2987.
47. Prives C. The p53 pathway / C. Prives, P. A. Hall // J. Path. –1999. – Vol. 187. – P. 112-126.
48. Rak J. Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis / J. Rak, J. Films, H. Finkenzeller [et al.] // Cancer Metastas. Rev. – 1995. – Vol. 14. – P. 263–277.
49. Risau W. Mechanisms of angiogenesis / W. Risau // Nature. – 1997. – Vol. 386. – P. 671-674.
50. Ruas M. The p16INK4a/CDKN2A tumor suppressor and its relatives / M. Ruas, G. Peters // Biochem. Biophys. Acta. – 1998. – Vol. 1378. – P.115-177.
51. Sherr C. J. Parsing Ink4a/Arf: «pure» p16-null mice / C. J. Sherr // Cell. – 2001. –Vol. 106. – P. 531-534.
52. Smilek P. Correlation of expression of Ki-67, EGFR, c-erbB-2, MMP-9, p53, bcl-2, CD34 and cell cycle analysis with survival in head and neck squamous cell cancer / P. Smilek, L. Dusek, K. Vesely [et al.] // J. ExP. Clin. Cancer Res. – 2006. – Vol. 25, № 4. – P. 549–555.
53. Soussi T. Significance of p53 mutations in human cancer: a critical analysis of mutations at CpG dinucleotides / T. Soussi, C. Beroud // Hum. Mutat. – 2003. – Vol. 21. – P. 192-200.
54. Trask D. Expression of Bcl-2 family proteins in advanced laryngeal squamous cell carcinoma: correlation with response to chemotherapy and organ preservation / D. Trask, G. Wolf, C. Bradf [et al.] // Laryngoscope. – 2002. – Vol. 112, № 4. – P. 638–644.
55. Urpegui G. Study of bcl-2 oncogene in squamous-cell carcinoma of the larynx / G. Urpegui, G. Morandeira, N. Soria [et al.] // Acta Otorrinolaringol. Esp. – 2000. – Vol. 51, № 3. – P. 228–234.
56. Weber A. Expression of p53 and its homologues in primary and recurrent squamous cell carcinomas of the head and neck / A. Weber, U. Bellmann, F. Bootz [et al.] // Int. J. Cancer. – 2002. – Vol. 99. – P. 22–28.
57. Wildeman M. A. Radiotherapy in laryngeal carcinoma: Can a panel of 13 markers predict response? / M. A. Wildeman, J. H. Gibcus, M. Hauptmann [et al.] // Laryngoscope. – 2009. – Vol. 21, № 2. – P. 316-319.
58. Wozniak A. Prognostic significance of Ki67 and PCNA expression in laryngeal squamous cell carcinoma (morphometric evaluation of labelling index-LI) / A. Wozniak, W. Golusinski, E. Kaczmarek [et al.] // Otolaryngol. Pol. – 2002. – Vol. 56, № 4. – P. 437-443.
59. Yang A. P63 and p73: p53 mimics, menaces and more / A. Yang, F. McKeon // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. – 2000. – Vol. 1. – P. 199–207.

Поступила в редакцию 16.05.11.

© С.Б. Безшапочний, Ю.А. Гасюк, В.В. Лобурець, 2011